Über

das Verhalten des Typhusbacillus

gegenüber

verschiedenen chemischen Agentien,

insbesondere Säuren, Alkalien und Anilinfarbstoffen.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doctorwürde

in der

Medicin, Chirurgie und Geburtshülfe

der

hohen medicinischen Facultät der Universität Rostock

vorgelegt

von

Karl Köhler

approb. Arzt aus Rostock (Gross Vielen).

Rostock 1893.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41553619_0213

[Aus dem hygienischen Institut zu Rostock.]

Ueber das Verhalten des Typhusbacillus gegenüber verschiedenen chemischen Agentien, insbesondere Säuren, Alkalien und Anilinfarbstoffen.

Von

Karl Köhler,
approb. Arzt.

Die seit der Entdeckung des Eberth'schen Typhusbacillus als specifischen Erregers des Abdominaltyphus von vielen Seiten gemachten Studien über denselben dienten nicht allein dazu, ein für sich abgeschlossenes Bild des Typhusbacillus in seinen morphologischen und biologischen Eigenschaften zu geben, sondern bezweckten zu gleicher Zeit, auf Grund derselben die für ihn allein charakteristischen Merkmale ähnlichen Bakterien gegenüber festzustellen, um sie als differentialdiagnostisches Hülfsmittel bei der Aufsuchung des Typhusbacillus aus Bakteriengemengen zu benutzen. Ueber die Resultate dieser letzten Bestrebungen urtheilte R. Koch[1] noch im Jahre 1890: „Ein sehr charakteristisches Beispiel für die Schwierigkeit, mit welcher die Bestimmung einer Art zu kämpfen hat, liefert der Typhusbacillus. Trifft man denselben in den Mesenterialdrüsen, in der Milz oder der Leber einer Typhusleiche, so wird wohl niemals ein Zweifel darüber entstehen, dass man es mit den echten Typhusbacillen zu thun hat, da an diesen Stellen bisher noch niemals andere Bakterien beobachtet sind, welche mit ihm verwechselt werden könnten. Ganz anders aber gestalten sich die Verhältnisse, wenn es sich um den Nachweis der Typhusbacillen im Darminhalt, Boden, Wasser, Luftstaub handelt. Da finden sich zahlreiche, ihnen sehr ähnliche Bacillen, die nur ein sehr geübter Bakteriologe, und auch dann nicht mit

[1] R. Koch, *Rede auf dem X. internationalen medicin. Congress zu Berlin.*

absoluter Sicherheit von den Typhusbacillen zu unterscheiden vermag, da es noch immer an unverkennbaren und constanten Merkmalen derselben fehlt. Die in neuerer Zeit mehrfach gemachten Angaben, dass Typhusbacillen im Boden, im Leitungswasser, in Nahrungsmitteln nachgewiesen wären, können daher nur mit berechtigtem Zweifel aufgenommen werden."

Als charakteristisch für den Typhusbacillus galt sein Wachsthum auf sterilisirten Kartoffelscheiben in Form eines nach 24 bis 48 Stunden sich bildenden, feuchten, glänzenden und farblosen Belages. So schreibt Seitz[1]: „Auf der Oberfläche von sterilisirten Kartoffeln zeigen die Typhusbacillen ein typisches, bisher in der Biologie der Bakterien einzig stehendes Wachsthum in Form eines allmählich vom Impfstrich sich ausbreitenden, feuchten Belages, wobei die Farbe der Kartoffeloberfläche in keiner Weise verändert wird. Diese Erscheinung ist bislang das einzig sichere Kriterium für Erkennung der Typhusbacillen." In gleicher Weise urtheilt Flügge[2], indem er das charakteristische Wachsthum auf Kartoffeln als dem Typhusbacillus eigenthümlich bezeichnet und zur Diagnose diese Eigenschaft als entscheidendes Kriterium fordert.

Bald jedoch wurden von verschiedenen Seiten Mittheilungen gemacht über Beobachtungen, die auch hierin Abweichungen vom sogenannten typischen Wachsthum feststellten. Nachdem schon Eisenberg[3] „atypische" Kartoffelculturen beschrieben, die er auf absichtlich herbeigeführte Alkalisirung der Kartoffeln zurückführte, und ebenso Fränkel und Simmonds[4], welche dieselben auf natürliche Verschiedenheiten der Kartoffeln bezogen, erschien die Arbeit von Ali Cohen[5], der auf Grund seiner Untersuchungen ein Wachsthum der Typhusbacillen auf Kartoffeln in vierfacher Weise beobachtete und zwar: 1. makroskopisch unsichtbares Wachsthum über die ganze Oberfläche, 2. makroskopisch sichtbares Wachsthum über die ganze Oberfläche, 3. makroskopisch sichtbares Wachsthum, auf das Centrum eingeschränkt, 4. makroskopisch sichtbares Wachstum auf das Centrum eingeschränkt mit unsichtbarer Ausstreuung der Colonieen in der Peripherie. Von diesen vier Wachsthumsmodificationen will Ali Cohen[6] nur die sub 1 angeführte als typisch und absolut charakteristisch gelten lassen, wobei er nicht nur die Unsichtbarkeit der Cultur, sondern auch ihre Ausbreitung über die ganze Ober-

[1] Seitz, *Studien zur Typhusätiologie.* 1886. S. 32.
[2] Flügge, *Die Mikroorganismen.* 1886. S. 202.
[3] Eisenberg, *Bakteriologische Diagnostik.* 1886.
[4] Fränkel und Simmonds, *Die ätiolog. Bedeutung des Typhusbacillus.* 1886.
[5] Ali Cohen, *De Typhus-Bacil. Een experimenteel en krit- onderzoek.* 1888.
[6] A. a. O.

fläche betont. Die anderen, obwohl unter Umständen häufiger als die sub 1 angeführte, vorkommenden Wachsthumsmodifikationen seien keineswegs dem Typhusbacillus allein eigenthümlich. Als Gründe für diese verschiedenen Wachsthumsformen will er nicht die von Eisenberg[1] und von Fränkel und Simmonds[2] angeführten Momente, nämlich Aenderungen im Nährsubstrat gelten lassen, sondern sucht sie in den Bacillen selbst.

In der weiteren Verfolgung dieser für die Diagnostik höchst wichtigen Modificationen untersuchte nach dem Vorgang von Buchner[3], der angegeben hatte, dass für die Bildung der vermeintlichen Sporen des Typhusbacillus eine saure Reaction der Kartoffeln nöthig sei, eingehend Schiller[4] das Verhalten der Reaction der Kartoffeln zu den verschiedenen Wachsthumsmodi des Typhusbacillus. Er fand dabei betreffs der alkalischen Kartoffeln, dass makroskopisch ein entschieden üppigeres Wachsthum der Typhusculturen stattfand; die Oberflächen der Kartoffeln waren mit einem grauweissen Rasen bedeckt, der zuweilen auch eine gelblich bis gelbbräunliche Farbe annahm. Bei der mikroskopischen Untersuchung fand er die auf alkalischer Kartoffel bei Zimmertemperatur gezüchteten Typhusbacillen stets weniger breit und kürzer, als die auf saurer Kartoffel gezüchteten; auch fehlten meist die längeren Scheinfäden, wie man sie auf den letzteren ganz gewöhnlich fand. Auch die auf alkalischer Kartoffel im Brutschrank gezüchteten Bacillen waren fast immer von kurzer, mässig dicker Form. Die Bildung der glänzenden Polkörner ging auf alkalischer Kartoffel langsam vor sich und zeigte nicht so grosse, schön glänzende Körper wie auf der sauren Kartoffel.

Zu fast gleichen Resultaten gelangte Belfanti,[5] der als Versuchsmaterial Kartoffeln verschiedener Qualität und Typhusbacillen verschiedener Herkunft und Alters wählte. Es gelang ihm nur mit den beiden ältesten Typhusculturen, das charakteristische Wachsthum zu erzielen, ferner mit einer Typhuscultur neueren Datums auf einer Kartoffel, die einen höheren Säuregrad hatte, als die anderen. Die übrigen Typhusculturen bildeten einen deutlichen Ueberzug auf allen Kartoffelarten, dessen Farbe zwischen Gelblichweiss und Graugelb variirte. In gleicher Weise erwies sich die Temperatur von Einfluss, indem Culturen, die bei Brüt-

[1] A. a. O.

[2] A. a. O.

[3] Buchner, Ueber die vermeintlichen Sporen der Typhusbacillen. *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. IV. Nr. 13.

[4] Schiller, Beitrag zum Wachsthum der Typhusbacillen auf Kartoffeln. *Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt.* Bd. V. S. 315.

[5] Belfanti, *Sulla infezione tifosa.* 1890.

temperatur einen lackartigen Ueberzug bildeten, bei Zimmertemperatur oder noch niedrigeren Graden auf denselben Kartoffeln das glänzende und farblose Aussehen zeigten, das als charakteristisch bezeichnet wird. Belfanti folgert aus diesen Untersuchungen, dass das sogenannte charakteristische Aussehen des Typhusbacillus auf Kartoffeln nur durch seine geringere Entwickelungskraft bedingt werde, als deren Ursachen er sowohl den höheren Säuregehalt des Nährsubstrates und niedrige Temperaturen als auch eine verminderte Lebensenergie der Bacillen (durch das Alter der Culturen) in Betracht zieht.

Als Resultat der vorstehenden Arbeiten ist demnach zu bezeichnen, dass das Aussehen der Kartoffelculturen des Typhusbacillus nicht in allen Fällen dasselbe, nicht unter allen Umständen als ein „typisches" zu treffen ist, und es ist die endgültige Entscheidung, ob eine aus einem Bakteriengemenge isolirte Colonie, deren Stäbchen in Grösse, Beweglichkeit, Färbungsvermögen und Lagerung mit Typhusbacillen grosse Aehnlichkeit haben, als echte Typhuscolonie anzusprechen sei, selbst durch die Kartoffelcultur nicht immer mit absoluter Sicherheit zu treffen. Wenn daher Fränkel[1] schreibt, dass man sich niemals ein bestimmtes Urtheil über das Auftreten des Typhusbacillus erlauben soll, „bevor man es nicht durch die Kartoffelcultur über jeden Zweifel erhoben hat", so ist dabei zu beachten, dass ein atypisches Wachsthum den Typhusbacillus nicht sicher ausschliesst. Die gleichen diagnostischen Zeichen finden sich bei Eisenberg[2] angegeben, doch ohne weitere Mittheilungen über die genannten Wachthumsmodificationen.

Ein neues Charakteristikum des Typhusbacillus stellte Kitasato[3] auf in der negativen Indolreaction. Zu der zu untersuchenden alkalischen Bouilloncultur setzte er von einer Lösung von reinem Kaliumnitrit (0·02 : 100) im Verhältniss 1 : 10, sowie einige Tropfen concentrirter Schwefelsäure. Ein Ausbleiben der Reaction durch das Fehlen des Indols zeigte sich stets bei Typhusculturen, während bei zahlreichen, dem Typhusbacillus ähnlich wachsenden Bakterienarten infolge von Vorhandensein von Indol eine rosa- oder tiefrothe Färbung eintrat. Ein anderes Charakteristikum will Petruschky[4] gefunden haben; er giebt an, dass, wenn man Typhusbacillen in Lackmusmolke bringt, die Molke bereits nach 24 Stunden

---

[1] Fränkel, *Grundriss der Bakteriologie.* 1890.

[2] Eisenberg, *Bakteriologische Diagnostik.* 1891.

[3] Kitasato, Die negative Indolreaction der Typhusbacillen im Gegensatz zu anderen ähnlichen Bakterienarten. *Diese Zeitschrift.* Bd. VIII. S. 515.

[4] Petruschky, Die Anwendung der Lackmusreaction zur Differenzirung der Typhusbacillen von ähnlichen Bakterienarten. *Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde.* Bd. VI. S. 660.

in Folge der Säurebildung des Typhusbacillus sich zu röthen beginnt, während andere, dem Typhusbacillus ähnliche Bakterien durch Alkalibildung dieselbe bläuen. Es sind diese beiden Reactionen, jedenfalls die von Kitasato angegebene geeignet, die endgültige Diagnose in zweifelhaften Fällen, in denen die Kartoffelcultur im Stich lässt, zu sichern, allerdings können sie dieselbe nicht ersetzen.

Wohl die grössten Schwierigkeiten liegen für den Untersucher darin, bei der Durchforschung einer Gelatineplatte, die durch das Ausstreuen eines verdächtigen Bakteriengemenges gewonnen wurde, überhaupt erst solche Colonieen zu bestimmen, deren Bakterien durch Form, Beweglichkeit u. s. w. den Typhusbacillen ähnlich sind. Diese Schwierigkeiten entstehen durch das Fehlen eines prägnanten Aussehens der Typhuscolonieen gegenüber den Colonieen anderer Bakterien, und dieselben wachsen in dem Grade, je spärlicher die Typhusbacillen im Verhältniss zur Zahl der anderen Bakterien vertreten sind. Es war daher von jeher das Bestreben darauf gerichtet, ein Verfahren zu finden, durch welches die Isolirung der Typhusbacillen aus einem Bakteriengemenge erleichtert würde. In dieser Richtung sind vielfach Versuche gemacht, durch Hinzufügen eines entwickelungshemmenden Mittels, sei es zu dem zu untersuchenden Material oder zu dem zur Untersuchung benutzten Nährsubstrat, von den neben dem Typhus vorhandenen Bakterien möglichst viele auszuschalten, nicht zur Entwickelung kommen zu lassen, in der Absicht, den Typhusbacillus aus dem Gemenge entweder allein hervorgehen zu sehen, oder ihn unter den in geringerer Zahl restirenden anderen Bakterien leichter auffindbar zu machen.

So gaben bereits 1887 Chantemesse und Vidal[1], durch Desinfectionsexperimente darauf geführt, an, dass in einer 0·2Procent Carbolsäure enthaltenden Gelatine die Typhusbacillen im Gegensatz zu sehr vielen anderen Bakterien gut wüchsen, und bedienten sich dieser Eigenschaft des Typhusbacillus mit Vortheil, um ihn aus Wasser oder Fäces leichter zu isoliren. Nicht praktisch verwendbar, doch von grossem Interesse war ferner die Angabe der genannten Autoren, dass sogar auf einer 2procentigen Salzsäuregelatine ein wenn auch nur kümmerliches Wachsthum der Typhusbacillen zu beobachten sei, während bisher allgemein ein Wachsthum auf so stark saurem Nährboden für unmöglich gehalten wurde. Ueber die praktische Verwendbarkeit der von Chantemesse und Vidal angegebenen Methode berichtete allerdings bereits schon im fol-

[1] A. Chantemesse et F. Vidal, *Recherches sur le bacille typhique et l'étiologie de la fièvre typhoide.* 1887.

genden Jahr Bartoschewitsch[1], dass die Methode im Allgemeinen wenig zuverlässig und nur dann andwendbar sei, wenn die Zahl der Typhusbacillen im Wasser eine bedeutende ist.

Eine Modification des Verfahrens schlug Thoinot[2] vor; er gab an, dass nur die Typhusbacillen allein aus einem Bakteriengemenge lebensfähig und somit nachweisbar blieben, wenn man zu je 100^{ccm} des zu untersuchenden Wassers 0·25^{gr} reinen Phenols hinzufüge. Wenn auch beide Methoden sich in der Praxis als nicht zuverlässig erwiesen, so war doch durch sie, was von grossem biologischen Interesse war, eine grössere Resistenzfähigkeit der Typhusbacillen, als man bisher angenommen, gegen verschiedene entwickelungshemmende Mittel constatirt.

Eingehender beschäftigte sich Kitasato[3] mit dem Säuregrad, der vom Typhusbacillus vertragen wird. Er fand dabei, dass eine Abtödtung der Typhusbacillen durch Salzsäure und auch durch Salpetersäure bereits bei einem Gehalt von 0·2 Procent stattfand, während Phosphorsäure schwächer wirkte. Schwefelsäure tödtete dagegen schon bei einem Gehalt von 0·08 Procent; bei Borsäure lag diese Grenze erst bei 2·7 Procent, bei Carbolsäure bei 0·28 Procent. Interessant ist der Schluss, den Kitasato aus seinen Versuchen zieht, dass nämlich die Typhusbacillen den angewandten Säuren gegenüber durchgehends viel widerstandsfähiger seien als die Cholerabacillen, während diese wieder Alkalien gegenüber eine grössere Resistenz zeigten.

Durch die Resultate Kitasato's, besonders betreffs der Borsäure, die bei einem Gehalt von 1·5 Procent in der Gelatine die Typhusbacillen sich günstig entwickeln lassen sollte, während andere typhusähnliche Bakterien unter diesen Bedingungen nicht mehr wüchsen, wurde Heim[4] veranlasst, neue Untersuchungen zu machen, in der Erwartung, auf diesem Wege Reinculturen aus Typhusstühlen u. s. w. züchten zu können. Dies gelang jedoch weder mit einer 1·5 proc. Borsäure noch mit einer 0·2 proc. Carbolsäure enthaltenden Gelatine, auf welchen Typhusbacillen theils gar nicht, theils im Gegensatz zu anderen Mikroorganismen nur verkümmert

---

[1] Bartoschewitsch. Ueber die Methode der Auffindung von Abdominaltyphusbacillen im Wasser. *Wratsch.* 1888. Nr. 50. — *Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde.* 1889. Bd. VI. S. 466.

[2] Thoinot, Sur la présence du bacille de la fièvre typhoide dans l'eau de la Seine à Ivry. *La semaine médicale.* 1887. Nr. 14. p. 135.

[3] Kitasato, Ueber das Verhalten der Typhus- und Cholerabacillen zu säure- und alkalihaltigen Nährböden. *Diese Zeitschrift.* 1888. Bd. III. S. 408.

[4] Heim, Ueber das Verhalten der Krankheitserreger der Cholera, des Unterleibstyphus und der Tuberculose in Milch, Butter, Molken und Käse. *Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt.* 1889. Bd. V.

wuchsen. Ein gleiches Resultat erlangte Heim mit einer 0·075 bis 0·1 Procent enthaltenden Salzsäuregelatine.

Ein ganz neues Nährsubstrat für Typhusbacillen gab Holz[1] an. Er bereitete aus dem ausgepressten Saft roher Kartoffeln (an Stelle einer sonst benutzten Rinderbouillon) eine 10 proc. feste und durchsichtige Gelatine von stark saurer Reaction, die zu ihrer Sättigung auf je 10 ccm 2·4—3·2 ccm Zehntel-Normal-Alkali gebrauchte. Auf derselben wuchsen Typhusbacillen in ganz charakteristischer und besonders üppiger Weise, während, besonders bei einem Zusatz von 0·05 Carbolsäure die meisten anderen Mikroorganismen versagten.

Auch Vincent[2] benutzte die Carbolsäure, um durch ihren Zusatz weniger widerstandsfähige Bakterien in ihrer Entwickelung zu hemmen und so den Typhusbacillus rein zu gewinnen. Er versetzte zu dem Zweck Bouillon mit 5 proc. Carbollösung im Verhältniss von 1 Tropfen auf je 2 ccm Bouillon und fügte dann 5 bis 15 Tropfen des zu untersuchenden Wassers hinzu. Das so gewonnene Gemenge wurde bei 42° C. conservirt. Trat Trübung ein, so wurde eine Oese voll auf neue Bouillon übertragen, bis nach 2 bis 5maliger Wiederholung dieser Procedur die Cultur rein war.

Die Methode konnte natürlich nur dann wirksam sein, wenn das zu untersuchende Wasser nur Bakterien von geringerer Resistenzfähigkeit, als sie der Typhusbacillus besitzt, enthielt. Eine Modification der Vincent'schen Methode schlug daher schon Parietti[3] vor. Er empfahl, der Bouillon 5 proc. Carbolsäure- und 4 proc. Salzsäurelösung im Verhältniss von 3, 6 und 9 Tropfen auf je 10 ccm beizumischen. In dem so bereiteten Nährmaterial, das er bei 37° C. hielt, trat, wenn er mit Typhusbacillen inficirtes Wasser hinzufügte, bereits nach 24 Stunden eine Trübung ein, und zwar nur in den Fleischbrühen mit 3 und 6 Tropfen Carbolsäurelösung. In diesen Fällen liess sich die Entwickelung von Typhusbacillen mikroskopisch und mittels der Plattenculturen nachweisen. Bei Zufügung von gewöhnlichem, nicht inficirtem Wasser trat allerdings bisweilen auch eine Trübung ein, doch im Gegensatz zu der durch Typhus bewirkten Trübung immer erst nach 48 Stunden.

Die Reihe der Mittheilungen über die Einwirkung der Carbolsäure

---

[1] Holz, Untersuchungen über den Nachweis der Typhusbacillen. *Diese Zeitschrift.* Bd. VIII. Hft. 1.

[2] Vincent, Sur un nouveau procédé d'isolement du bacille typhique dans l'eau. *Comptes rend. hebdom. des séances de la biologie.* 1890. No. 5.

[3] Parietti, Metodo di ricerca del bacillo del tifo nelle acque potabili. *Rivista d'igiene e sanità publica.* 1890. Nr. 11.

schliesst mit den Versuchen von O. Katz,[1] welcher erst bei 0·5 Procent die Entwickelung der Typhusbacillen vollständig aufgehoben fand, dagegen ein üppiges Wachsthum constatirte, sobald Carbolsäure im Verhältniss von 1:2000 = 0·05 Procent vorhanden war.

Ueber die Einwirkung verschiedener organischer und anorganischer Säuren auf mehrere pathogene Mikroorganismen, unter diesen auch auf den Typhusbacillus, stellten Schlüter[2] und nach ihm Helm[3] eingehende Untersuchungen an, und zwar in der Weise, dass die mit den verschiedenen Säuren in steigender Menge versetzten Nährsubstrate mit den Bakterien in Form eines Striches beimpft wurden, so dass letztere also nicht im Nährsubstrat eingebettet, sondern an der freien Oberfläche zur Entwickelung gelangten. Zu den Versuchen wurden Milchsäure, Citronensäure, Essigsäure, Weinsäure, Alaun und Salzsäure verwendet. Dabei will nun Schlüter gefunden haben, dass der Typhusbacillus sogar auf einer 1 proc. Milchsäuregelatine, wenn auch nur schwach und langsam fortkam; auf einer 1 proc. Weinsäuregelatine wuchs er nicht mehr, dagegen recht gut, sobald die Gelatine nur 0·25 Procent dieser Säure enthielt. Auch die anderen angewandten Säuren liessen in schwachen Concentrationen bei ungefähr 0·2 Procent ein gutes Wachsthum zu.

Zu ähnlichen Resultaten betreffs des Typhusbacillus gelangt Helm. Er constatirte dabei eine fast gleiche Einwirkung von Milchsäure und Citronensäure; eine mit 0·1 Procent dieser Säuren versetzte Gelatine liess den Typhusbacillus sich in kurzer Zeit günstig entwickeln; etwas verlangsamt war das Wachthum bei 0·2 Procent, noch mehr bei 0·33 Procent, doch auch hier war nach 3 bis 7 Tagen ein Wachthum erkennbar. Eine stärkere Einwirkung zeigte 30 proc. Essigsäure und noch mehr Salzsäure: beide liessen bereits bei 0·1 Procent ein verlangsamtes Wachsthum erkennen; bei 0·3 proc. Essigsäure zeigte sich nur noch verkümmertes Wachthum, ebenso bereits bei 0·2 proc. Salzsäure.

Ein neues differentialdiagnostisches Mittel war inzwischen von Gasser[4] angegeben. Er berichtete, dass auf einer mit wässriger Fuchsinlösung gefärbten Nähragarmasse, welche strichweise mit Typhusbacillen beimpft wurde,

---

[1] O. Katz, *Final Report of the Royal Commission to report upon the sanitary condition of Melbourne.* 1890.

[2] Schlüter, Das Wachsthum der Bakterien auf saurem Nährboden. *Dissertation.* Rostock 1892.

[3] Helm, Mittheilungen über das Wachsthum von Bakterien auf sauren Nährböden. *Dissertation.* Leipzig 1892.

[4] E. Gasser, Sur un nouveau procédé de diagnostic différentiel du bacille d'Eberth. *La Semaine médicale.* 1890. No 31.

die Culturen desselben sich stark roth färbten unter gleichzeitiger Entfärbung des umgebenden Nährbodens. Von anderen, in dieser Richtung geprüften Bakterien will Gasser nur beim Bacterium coli commune ein ähnliches Verhalten gesehen haben, doch sei bei diesem das Wachsthum streng auf den Impfstrich beschränkt gewesen, während der Typhusbacillus eine unregelmässige, flächenhafte Ausbreitung gezeigt habe.

Hatte man bislang durch verschiedene Säuren, besonders durch Carbolsäure, einen entwickelungshindernden Einfluss auf die neben dem Typhusbacillus vorhandenen Bakterien auszuüben gesucht, in der Erwartung, dass der Typhusbacillus in Folge seiner grösseren Resistenzfähigkeit die auch für ihn mehr oder weniger grossen Schädigungen des Wachsthums überwinden werde, so suchte Uffelmann[1] dies zu erreichen durch einen Zusatz von Säure, verbunden mit einem Zusatz von Anilinfarbstoffen, welch letzterer theils einen entwickelungshemmenden Einfluss auf andere Bakterien mit ausübte, theils zu einer neuen Charakteristik der Typhuscolonieen selbst führte. Von den Thatsachen ausgehend, dass der Typhusbacillus selbst einen ziemlich hohen Säuregrad gut verträgt, dass er ferner in einer mit Methylviolett ziemlich stark gefärbten Gelatine gut und ganz charakterisch wächst, gelang es Uffelmann durch Vereinigung von Säuren und Farbstoffen einen Nährboden herzustellen, der einmal von den neben dem Typhus bestehenden Bakterien eine grosse Zahl durch seine entwickelungshindernden Eigenschaften ausschaltete, andererseits die Typhuscolonieen besser hervortreten liess. Ueber diesen letzten Punkt bemerkt derselbe: „Die in solchem Nährmedium nach 24 Stunden (bei etwa 20 bis 21° C.) auftauchenden Colonieen erscheinen rundlich oder länglichrund, scharf gerandet oder hell, noch ungefärbt. Schon nach weiteren 24 Stunden haben sie aber bläulichen Schimmer und einen Umfang von 1·5 mm. In den folgenden Tagen nimmt die Blaufärbung zu, bis schliesslich die Colonieen viel intensiver blau sind als die Gelatinemasse, in der sie eingebettet liegen. Dabei erkennt man deutlich die feine Granulirung, wie sie den Typhuscolonieen zukommt. Diejenigen, welche an der Oberfläche der Gelatine wachsen, erscheinen in der centralen Partie intensiv blau gefärbt, in den peripheren nur mattblau, hier von feineren Strichen oder welligen Linien durchzogen und am Saum unregelmässig ausgebuchtet. In Strichculturen entwickelt sich ein nicht breiter, allmählich intensiv blau sich färbender und die Umgebung an Bläue stark übertreffender Rasen, an dessen Saum man dicht gruppirte, blaue, granulirte Colonieen findet."

[1] Uffelmann, Ueber den Nachweis des Typhusbacillus. *Berliner klinische Wochenschrift.* 1891. Nr. 35.

Das Verhalten des Typhusbacillus gegenüber verschiedenen entwickelungshemmenden Mitteln, als welche meist Säuren benutzt wurden, ist für seine Biologie von grossem Interesse und auch praktisch von Werth. Denn es zeigt einmal eine bedeutende Widerstandsfähigkeit gegen manche schädigende Momente, wie sie viele andere Bakterien nicht besitzen. Allerdings ist die Zahl der Mikroorganismen, welche auf Nährböden von relativ hohem Säuregehalt nicht nur wachsen, sondern sogar zum Theil besonders charakteristisch zur Entwickelung kommen, eine grössere als man bislang allgemein annahm; es wurde dies durch die Untersuchungen von Schlüter und Helm erwiesen. Immerhin aber besitzt der Typhusbacillus augenscheinlich eine ganz besondere Widerstandskraft gegenüber den verschiedensten chemischen Agentien, so dass sogar auf Grund dieser Eigenschaft wiederholt der Versuch gemacht wurde, seine Isolirung aus Gemengen der verschiedensten Mikroorganismen zu bewerkstelligen.

Das Interesse nun, welches die genannte biologische Eigenschaft des Typhusbacillus für sich in Anspruch nimmt, hat mich auf Anregung des Herrn Prof. Uffelmann bewogen, die Wachsthumsverhältnisse des Typhusbacillus gegenüber einer Reihe von Säuren und Alkalien, sowie auch gegenüber den Farbstoffen, die bereits von Gasser und von Uffelmann benutzt wurden, einer genaueren Prüfung zu unterziehen. Es war dabei von Interesse zu erfahren, wie sich das Wachsthum der Typhusbacillen nicht nur auf der Oberfläche der Nährböden, also im Impfstrich gestaltete, sondern auch, wie dasselbe sich gestaltete, wenn nur spärliche Bacillen im Nährboden zerstreut und eingebettet, vorhanden waren. Die Versuche wurden daher im Allgemeinen in der Art gemacht, dass die Nährböden theils im erstarrten Zustand in Form eines Striches beimpft wurden, theils noch flüssig mit geringen Mengen Typhusbacillen beschickt und dann an den Wänden des Reagensglases ausgerollt wurden. Als Nährboden wurde stets eine 10proc. Fleischwasserpeptongelatine benutzt, welche erst genau neutralisirt,[1] und dann mit den verschiedenen Agentien in einer stets ein 10 oder auch nur ein 5 ^{cgrm} pro 100 ^{ccm} gesteigerten Concentration versetzt.

Da es ferner von grossem praktischen Interesse war, auch das Wachsthum gewöhnlicher Wasserbakterien im Vergleich zum Typhusbacillus auf den verschiedenen Nährböden zu prüfen, so wurden in einzelnen Fällen neben den Rollculturen mit Typhusbacillen zugleich solche mit gewöhnlichem Wasser angelegt, dessen Bakterienzahl gleichzeitig durch eine Rollcultur in gewöhnlicher, schwach alkalischer Gelatine festgestellt wurde. Das hierzu benutzte Wasser wurde unter den üblichen Cautelen der Rostocker Wasserleitung entnommen. Die Temperatur, bei der sämmtliche Culturen gehalten wurden, war gewöhnliche Zimmertemperatur,

[1] Die Prüfung der Reaction wurde mittels Lackmuspapier vorgenommen.

die während der Monate, in welchen die Untersuchungen gemacht wurden, Juni bis September, im Durchschnitt 20° C. betrug.

Ich gehe nun dazu über, die einzelnen Versuche zu beschreiben.

I. Mit Milchsäure versetzter Nährboden.

Auf den Strichculturen zeigt sich bei 0·1 und 0·2 Procent schon am zweiten Tage ein kräftiges Wachsthum; auch im weiteren Verlaufe entwickelt sich der Typhusbacillus hier üppig; in derselben Weise, nur etwas langsamer, war das Wachsthum bei 0·25 Procent. Damit war die Grenze des guten Wachsthums erreicht. Bei 0·3 Procent war nach vier Tagen nur ein schwacher Rasen längs des Impfstriches sichtbar, der sich erst nach einigen weiteren Tagen mässig entwickelte; bei 0·35 Procent war nach sechs Tagen ein ganz schwaches Wachsthum mit blossem Auge erkennbar, während bei 0·4 Procent es zweifelhaft bleiben musste, ob ein Wachsthum hier überhaupt noch stattfand.

In der Rollcultur waren bei 0·1 und 0·2 Procent ebenfalls schon am zweiten Tage Colonieen erkennbar, die sich dann in den folgenden Tagen gut und charakteristisch entwickelten. Bei 0·25 Procent waren sie dagegen erst nach drei Tagen sichtbar und zeigten auch weiterhin ein verlangsamtes Wachsthum. Bei 0·3 Procent fand keine Entwickelung von Typhusbacillen mehr statt.

II. Mit Citronensäure versetzter Nährboden.

Fast genau dieselben Verhältnisse wie bei der Milchsäure zeigten sich bei der Citronensäure. Auch hier war in den Strichculturen bei 0·1 und 0·2 Procent ein kräftiges Wachsthum vorhanden, ebenso, nur etwas langsamer bei 0·25 Procent. Dagegen fand von 0·3 Procent ab nur eine schwache Entwickelung statt, die auch nach mehreren Tagen nicht zu einem leidlichen Rasen führte; bei 0·35 Procent war das Wachsthum nach sechs Tagen mit blossem Auge eben erkennbar, und bei 0·4 Procent nur mikroskopisch zu constatiren.

In den Rollculturen waren bei 0·1 und 0·2 Procent nach zwei Tagen die Typhuscolonieen sichtbar, dagegen bei 0·25 Procent erst nach mehreren Tagen, auch zeigten sie hier sehr langsames Wachsthum. Damit war die Grenze erreicht, in 0·3 Procent entwickelten sich keine Colonieen mehr.

III. Mit Phosphorsäure versetzter Nährboden.

Zu diesen Versuchen wurde die Phosphorsäure der Pharmakopoe benutzt, welche 20 Procent wasserfreie Säure enthält. Entsprechend dieser

geringen Concentration war der Procentgehalt, bis zu welchem ein Wachsthum stattfand, ein bedeutend höherer als bisher; in schwachen Concentrationen schien die Phosphorsäure das Wachsthum der Typhusbacillen direct günstig zu beeinflussen. Auf sämmtlichen Strichculturen bis 0·25 Procent entwickelte sich in kurzer Zeit ein sehr üppiger Rasen, der sich zu beiden Seiten des Impfstriches stark ausbreitete. Ein nicht ganz so üppiges, aber immerhin gutes Wachsthum bereits am zweiten Tage zeigte sich auf den Strichculturen mit 0·3 bis 0·7 Procent Säure, das weiterhin zu einem kräftigen Rasen führte. Etwas verlangsamt war es bei 0·8 Procent, während 0·9 und 1·0 Procent eine starke Abnahme in der Entwickelung erkennen liessen; mit 1·05 Procent war hier die Grenze erreicht.

Bei fast gleicher Stärke der Concentration ging das Wachsthum in den Rollculturen vor sich. Noch bei 0·6 Procent waren am zweiten oder dritten Tage die Colonieen erkennbar, die sich auch weiterhin gut entwickelten. Bei höherem Säuregehalt wurde dann aber das Wachsthum bedeutend langsamer; so waren bei 0·8 und 0·9 Procent erst nach sechs Tagen deutliche Colonieen vorhanden. Bei 1·0 Procent waren sie sogar erst nach 10 Tagen mikroskopisch sichtbar und zeigten später ein kaum nennenswerthes Wachsthum.

Die gleichzeitig mit den Rollculturen der Typhusbacillen angefertigten Rollculturen mit je einem Tropfen Leitungswasser liessen bis 0·5 Procent keine Abnahme der Keimzahl erkennen, auch gelangten so lange noch verflüssigende Colonieen zur Entwickelung. Erst von 0·6 Procent an hörten letztere auf zu wachsen, während andere Wasserbakterien, wenn auch in geringer Zahl und mit langsamem Wachsthum, bis 1·0 Procent hin sich zeigten.

IV. Mit Weinsäure versetzter Nährboden.

Auch die Weinsäure schien in ganz schwachen Concentrationen einen günstigen Einfluss auf das Wachsthum der Typhusbacillen auszuüben. So zeigten die Strichculturen mit 0·05 und 0·1 Procent Säuregehalt schon am zweiten Tage ein sehr üppiges Wachsthum mit Ausbreitung des Rasens nach beiden Seiten hin. Auch bei 0·15 Procent fand in kurzer Zeit eine nur wenig schwächere Entwickelung statt. Dagegen trat schon bei 0·2 Procent eine Hemmung des Wachsthums ein, so dass es erst nach acht Tagen zu einer mässigen Entwickelung kam. Bei 0·25 Procent schien die Grenze erreicht; hier fand überhaupt nur ein ganz schwaches Wachsthum statt, das bei 0·3 Procent zweifelhaft bleiben musste.

Auch in den Rollculturen waren die Typhusbacillen bei 0·05 und 0·1 Procent in kurzer Zeit sichtbar und entwickelten sich auch weiterhin

günstig. Auch noch bei 0·15 Procent fand ein etwas langsameres, aber noch leidliches Wachsthum statt. Eine starke Entwickelungshemmung trat dann plötzlich bei 0·2 Procent ein; hier zeigten sich erst nach acht Tagen kleine Colonieen, die auch später nur ganz geringe Fortschritte im Wachsthum machten. Ebenso spät zeigten sich die Colonieen bei 0·25 Procent, doch liessen dieselben auch fernerhin kein weiteres Wachsthum erkennen.

V. Mit Essigsäure versetzter Nährboden.

Zur Ansäuerung wurde Acidum aceticum dilutum der Pharmakopoe benutzt, die in 100 Theilen 30 Theile Essigsäurehydrat enthält. Die Essigsäure übte auch in schwachen Säuregraden einen stark entwickelungshemmenden Einfluss aus. So fand ein gutes und ungehindertes Wachsthum der Typhusbacillen in den Strichculturen nur auf dem einzigen Nährboden mit 0·05 Procent Säure statt, während schon bei 0·1 Procent erst nach fünf Tagen ein nur mässig entwickelter Rasen sich zeigte. Bei 0·15 und 0·2 Procent war der Einfluss der Säure bereits so gross, dass nur noch ein schwaches, resp. verkümmertes Wachsthum zu erkennen war.

In den Rollculturen war schon mit 0·1 Procent die Grenze erreicht; die Colonieen waren hier erst spät sichtbar und zeigten überhaupt stark verlangsamtes Wachsthum. Nur bei 0·05 Procent gelangten sie ungehindert und gut zur Entwickelung.

In den gleichzeitig mit Leitungswasser angelegten Rollculturen war schon bei 0·05 Procent, noch mehr bei 0·1 Procent eine starke Abnahme in der Zahl der Keime zu bemerken. Doch gelangten sogar noch bei 0·15 Procent, wo das Wachsthum der Typhusbacillen bereits aufgehört hatte, einzelne wenige Keime zu einer stark verlangsamten Entwickelung.

VI. Mit Alaun versetzter Nährboden.

Die Einwirkung des Alaun war eine etwas schwächere, als sie die vorher genannten Säuren zeigten. In zwei bis drei Tagen fand eine gute Entwickelung der Typhusbacillen in den Strichculturen mit einem Gehalt bis zu 0·25 Procent Alaun hin statt. Die höheren Alaunconcentrationen liessen dagegen ziemlich plötzlich eine Entwickelungshemmung eintreten. Bei 0·3 Procent war das Wachsthum in den ersten Tagen nur schwach und entwickelte sich erst später leidlich, wobei allerdings eine etwas kühlere Temperatur während des Wachsthums von Einfluss gewesen sein kann. Dagegen war es bei 0·35 Procent geradezu schwach zu nennen, noch mehr bei 0·4 Procent, wo ein Wachsthum auch nach 10 Tagen nur mikroskopisch erkennbar war. — Die Entwickelung der Colonieen in den

Rollculturen war ungehemmt und gut bis zu einem Alaungehalt von 0·15 Procent; eine Verlangsamung des Wachsthums zeigte sich schon bei 0·2 Procent, doch kamen die Colonieen auch hier noch leidlich zur Entwickelung. Direct verkümmert blieben sie bei 0·25 Procent, wenn sie auch nach Verlauf von 10 Tagen mit blossem Auge erkennbar waren. Bei noch höheren Alaungraden entwickelten sich die Typhusbacillen nicht mehr.

VII. Mit Carbolsäure versetzter Nährboden.

Auf der mit Carbolsäure versetzten Gelatine zeigte der Typhusbacillus in der Strichcultur bei 0·05 und 0·1 Procent ein durchaus unbehindertes und günstiges Wachsthum; etwas langsamer war es augenscheinlich bei 0·15 Procent, doch war auch hier nach 6 Tagen ein ziemlich guter Rasen längs des Striches gewachsen. Dagegen war bei 0·2 Procent nach 4 Tagen das Wachsthum eben erst erkennbar und blieb auch fernerhin nur schwach; bei 0·25 Procent zeigte sich auch nach längerer Zeit nur eine sehr kümmerliche Entwickelung.

In den Rollculturen mit 0·05 und 0·1 Procent waren die Typhuscolonieen am zweiten Tage sichtbar und zeigten von da an ein gutes Wachsthum. Dagegen waren in der 0·15 Procent Carbolsäure enthaltenden Gelatine erst am siebenten Tage wenige Colonieen zu erkennen, die auch weiterhin sich langsam entwickelten und ziemlich klein blieben. In den Culturen mit 0·2 und 0·25 Procent gelangten Typhusbacillen nicht mehr zur Entwickelung, wie durch wiederholte Versuche bestätigt wurde.

Einen stark hemmenden Einfluss zeigte die Carbolsäure auf die Bakterien des Leitungswassers. Während in einer mit einem Tropfen Wasser beschickten, schwach alkalischen Gelatine 15 Keime wuchsen, darunter 3 verflüssigende, gelangten in einer Carbolsäuregelatine von 0·05 Procent nur 6 Keime zur Entwickelung, unter diesen nur ein verflüssigender. In der Gelatine mit 0·1 Procent zeigten sich erst nach 6 Tagen 2 Colonieen; verflüssigende Keime wuchsen hier nicht mehr. Schliesslich gelangten bei 0·15 Procent Bakterien des Leitungswassers überhaupt nicht mehr zur Entwickelung. Da der Keimgehalt des Leitungswassers ein ziemlich geringer war, so wurde, um die Wirkung der Carbolsäure auch auf Wasser mit hohem Keimgehalt zu prüfen, bei einem zweiten Versuch Wasser benutzt, das direct dem Rostocker Strassensiel entnommen war. Dasselbe war von grauschwarzer Farbe, stinkendem Geruch und enthielt zahllose Bakterien, von denen mindestens der dritte Theil die Gelatine verflüssigte. Zu einem mit Typhusbacillen inficirten Wasser wurde eine geringe Menge dieses Sielwassers gethan und nach genügender Vertheilung eine 0·1procentige Carbolsäuregelatine mit einem Tropfen des Gemenges

beschickt. Eine zweite Cultur von demselben Carbolsäuregehalt wurde zur Controle mit einer Reincultur des Typhus geimpft, eine dritte mit einem Tropfen des Sielwassers ohne jegliche Verdünnung. Nun zeigte die Controlcultur mit Typhusbacillen am zweiten Tage deutliche Typhuscolonieen, die auch weiterhin gut wuchsen. Die Cultur aus dem in starker Verdünnung mit Typhusbacillen inficirten Sielwasser liess auch schon am zweiten Tage Colonieen erkennen, die auch in ihrer weiteren Entwickelung als echte Typhuscolonieen anzusprechen waren, daneben wuchsen aber auch zahlreiche Colonieen von Wasserbakterien. In der dritten Cultur mit verdünntem Sielwasser allein wuchsen in kurzer Zeit zahllose Colonieen, doch waren sowohl in dieser als in der vorher genannten Cultur sämmtliche verflüssigende Keime abgetödtet. Auch in einer 0·15 Procent Carbolsäure enthaltenden Gelatine, welche mit Sielwasser allein geimpft war, wuchsen zahllose Colonieen, unter Ausschluss der verflüssigenden.

VIII. Mit Sublimat versetzter Nährboden.

Die Versuche mit Sublimat, die ich an die mit Carbolsäure anschloss, um die Wirkung dieses Desinficiens auf Typhusbacillen zu erproben, liessen erkennen, dass dieselbe in Strichculturen bereits begann, wenn der Nährboden mit Sublimat im Verhältnis 1 : 10 000 versetzt war. Während bei schwächeren Concentrationen sich stets gutes Wachsthum zeigte, war dasselbe hier nur sehr schwach, erst nach mehreren Tagen erkennbar und auch fernerhin stark verlangsamt. Die Grenze schien also bei der Concentration von 1 : 10 000 zu liegen. In den Rollculturen entwickelten sich die Typhuscolonieen stets gut bis zu einem Gehalt von 1 : 15 000, wo sie nur noch spärlich und langsam wuchsen. In noch stärker mit Sublimat versetzten Nährböden kamen die Typhusbacillen nicht mehr zur Entwickelung. Dagegen zeigten Wasserbakterien sich weniger empfindlich; spärliche Colonieen derselben wuchsen noch bei 1 : 10 000.

IX. Mit Salzsäure versetzter Nährboden.

Zu diesen Versuchen wurde Acidum hydrochloricum der Pharmakopoe benutzt, welche 25 Procent wasserfreie Säure enthält. Die Wirkung derselben, wie überhaupt der Mineralsäuren, war annähernd dieselbe wie die der vorher besprochenen, auf reinen Säuregehalt berechneten organischen Säuren. So fand hier bei 0·05 und 0·1 Procent ein durchaus gutes und ungehemmtes Wachsthum statt, das bei 0·15 Procent in geringem Grade verlangsamt erschien, doch auch hier noch zu einem ziemlich kräftigen Rasen führte. Die hemmende Wirkung der Säure zeigte sich direct bei 0·2 Procent, wo das Wachsthum von vornherein schwach war und auch

weiterhin blieb. Bei 0·25 Procent war es sogar zuerst mehrere Tage zweifelhaft, erst nach längerer Zeit kam es zu einer kümmerlichen Entwickelung längs des Impfstriches. In den Rollculturen hörte eine gute, unbehinderte Entwickelung der Colonieen bereits auf mit einem Säuregehalt von 0·1 Procent. Die spärlichen Colonieen, die sich in der Cultur mit 0·15 Procent entwickelten, waren erst verspätet sichtbar und gelangten nicht mehr zur vollen Entwickelung.

X. Mit Salpetersäure versetzter Nährboden.

Die zur Ansäuerung des Nährbodens verwandte Salpetersäure war die der Pharmakopoe mit einem Gehalt von 30 Procent wasserfreier Säure. Sie zeigte eine entschieden schwächere Wirkung als die Salzsäure. Bis zu einem Säuregehalt von 0·25 Procent war auf den Strichculturen ein gutes Wachsthum der Typhusbacillen vorhanden; etwas schwächer und langsamer wurde es bereits bei 0·3 Procent, doch noch bei 0·35 und 0·4 Procent kamen die Typhusbacillen, im letzteren Fall nur kümmerlich, zur Entwickelung. In den Rollkulturen wuchsen sie wiederum sehr gut bis zu einem Säuregehalt von 0·2 Procent, während sich bei 0·25 Procent durch verspätetes und langsames Wachsthum die Grenze zeigte.

Weniger empfindlich zeigten sich auch hier die Bakterien des Leitungswassers. Abgesehen von der Ausschaltung der die Gelatine verflüssigenden Bakterien, war noch bei 0·2 Procent eine Abnahme der zur Entwickelung gelangenden Keime nicht zu bemerken. Eine Verminderung auf ungefähr $^1/_3$ zeigte sich erst bei 0·3 Procent, und sogar auf einer 0·4 procentigen Gelatine wuchsen noch einige Colonieen, wenn auch in stark verlangsamter Weise.

XI. Mit Schwefelsäure versetzter Nährboden.

Die zur Verwendung gelangende Schwefelsäure war 97 procentig. Ihrer starken Concentration entsprechend, zeigte sich nur auf der Strichcultur mit 0·05 Procent ein leidliches Wachsthum, während bei 0·1 Procent kein Wachsthum mehr stattfand. Eine Cultur, deren Säuregehalt ungefähr in der Mitte zwischen 0·05 und 0·1 Procent lag, liess es zweifelhaft bleiben, ob eine Entwickelung überhaupt noch stattfand.

In den Rollculturen war schon bei 0·05 Procent kein Wachsthum von Typhuscolonieen vorhanden, auch kamen bereits hier sämmtliche Wasserbakterien nicht mehr zur Entwickelung.

XII. Mit Natronlauge versetzter Nährboden.

Sowohl die Natronlauge als auch die später zu besprechende Kalilauge waren 33 procentig. Die Widerstandsfähigkeit des Typhusbacillus

gegen diese beiden Alkalien war eine scheinbar grosse. So war bei der Natronlauge das Wachsthum in den Strichculturen bis 0·35 Procent ein durchaus gutes und unbehindertes; etwas verlangsamt erschien es bei 0·4 Procent, noch mehr bei 0·45 Procent, doch auch hier entwickelte sich noch nach einigen Tagen ein guter Rasen. Dagegen kam es bei 0·5 Procent nur zu einer mässigen Entwickelung, während bei 0·55 Procent das Wachsthum schwach und kümmerlich blieb.

Auch in den Rollculturen mit einem Gehalt bis 0·35 Procent liess sich eine Behinderung des Wachsthums der Typhuscolonieen nicht erkennen. Etwas verlangsamt war es dagegen bei 0·4 Procent, obwohl auch hier noch die Colonieen leidlich zur Entwickelung kamen. Sehr verspätet erschienen sie bei 0·45 Procent, auch blieben sie weiterhin sehr im Wachsthum zurück. Die obere Grenze war mit 0·45 Procent erreicht. Die Wasserbakterien wuchsen in der mit Natronlauge versetzten Gelatine auch dann noch, wenn der Typhusbacillus bereits versagte. Sogar verflüssigende Keime wuchsen, allerdings sehr langsam, noch bei 0·4 Procent, während das Wachsthum anderer Keime sich bis 0·5 Procent hin verfolgen liess.

XIII. Mit Kalilauge versetzter Nährboden.

Die Kalilauge erwies sich von etwas schwächerer Einwirkung auf Bakterien als die Natronlauge. Die Typhusbacillen zeigten bis 0·6 Procent hin gutes Wachsthum. Die höheren Alkaligrade mit 0.65 Procent und noch mehr mit 0·7 Procent liessen schon einen hemmenden Einfluss erkennen, der bei 0·75 und 0·8 Procent nur noch ein schwaches bezw. kümmerliches Wachsthum zuliess.

In entsprechender Weise wuchsen die Typusbacillen auch in den Rollculturen bei höheren Alkaligraden. Hier war bis 0·5 Procent ein ungehemmtes Wachsthum erkennbar. Eine Verlangsamung in der Entwickelung trat bei 0·55 Procent ein, doch noch bei 0·6 und 0·65 Procent kamen Typhuscolonieen, wenn auch verspätet und schwach zur Entwickelung.

Die Einwirkung der Kalilauge auf Wasserbakterien war ebenfalls eine entsprechend geringere. Bis 0·6 Procent wuchsen dieselben, auch die verflüssigenden, durchaus ungehindert betreffs Zahl der Keime und Schnelligkeit der Entwickelung. Eine Abnahme der Keimzahl war erst bei 0·65 Procent zu bemerken, doch bis 0·8 Procent hin liess sich das Wachsthum der Wasserbakterien verfolgen. Die die Gelatine verflüssigenden Bakterien gelangten bis 0·7 Procent hin zur Entwickelung, hier allerdings sehr verspätet.

XIV. Mit Methylviolett versetzter Nährboden.

Die Versuche mit Farbstoffen wurden in derselben Weise ausgeführt wie die vorher besprochenen, indem der neutrale Nährboden in langsam steigender Stärke mit den Farbstoffen versetzt wurde. Die Steigerung betrug immer 0·5 mgr zu 100·0 Gelatine. Auf den mit Methylviolett wie mit Fuchsin gefärbten Nährböden war nun das Wachsthum der Typhusbacillen insofern ein besonderes, als mit ihm, wie bereits von Uffelmann (s. oben) beschrieben, eine Blau- oder Rothfärbung des Impfstriches oder der einzelnen Colonieen verbunden war, unter gleichzeitiger langsamer Entfärbung des umgebenden Nährsubstrats.

Auf den Strichculturen der Nährböden, die mit Methylviolett im Verhältniss von 1·0 bis 2·0 mgr : 100·0 versetzt waren, zeigte sich das Wachsthum durchaus günstig; ein kräftiger Rasen entwickelte sich längs des Impfstriches, der zuerst nur einen ganz schwach bläulichen Schimmer erkennen liess, dann ungefähr vom dritten Tage an unter gleichzeitiger Entfärbung der umgebenden Gelatine allmählich einen mehr oder weniger stark blauen Farbenton annahm. So war der Rasen auf der Gelatine 1·0 mgr : 100·0 nur mattblau gefärbt, dagegen war er bei 2·0 mgr : 100·0 ziemlich intensiv blau. Etwas langsamer war das Wachsthum bei 2·5 mgr : 100·0, doch entwickelte sich auch hier nach 5 bis 6 Tagen ein guter Rasen von intensiv blauer Färbung. Auf einer Reihe von noch stärker gefärbten Nährböden blieb das Wachsthum der Typhusbacillen nur mässig, während die Farbe des Impfstriches fast dunkelblau wurde; es waren dies die mit Methylviolett im Verhältniss von 3·0 bis 4·5 mgr : 100·0 versetzten Gelatinen. Bei 5·0 mgr : 100·0 kam es erst nach längerer Zeit zu einem leidlichen Rasen, während bei 5·5 und 6·0 mgr : 100·0 das Wachsthum sehr schwach, resp. nur angedeutet war. Mit 6·0 mgr : 100·0 war auf den Strichculturen die Grenze erreicht.

In den Rollculturen zeigten sich die Colonieen am ersten oder zweiten Tage ihres Erscheinens farblos, nahmen jedoch von nun an einen schwach bläulichen Schimmer an, der sich im weiteren Verlauf zu einem mehr oder weniger stark blauen Farbenton steigerte. In den Culturen mit 1 bis 2 mgr Methylviolett : 100·0 nahm das Wachsthum einen ungehinderten Verlauf. Die Colonieen waren spätestens am zweiten Tage mikroskopisch als rundliche, farblose Gebilde sichtbar, die nach weiteren zwei Tagen auch makroskopisch erkennbar unter zunehmender Blaufärbung jenes fein granulirte Aussehen zeigten, das für Typhuscolonieen als charakteristisch gilt. Bei 2·5 mgr : 100·0 schien die Entwickelung im Ganzen etwas langsamer, doch erreichten die Colonieen schliesslich dieselbe Grösse wie vorher. Dagegen blieben sie bei 3·0 mgr : 100·0 überhaupt nur klein,

auch nach längerer Zeit eben nur makroskopisch erkennbar. Mit 3·5 mgr : 100·0 schien die Grenze erreicht; hier gelangten nur noch spärliche, vielleicht besonders lebenskräftige Typhusbacillen zur Entwickelung, doch kamen die aus ihnen entstandenen Colonieen über eine durch das Mikroskop zu erkennende Grösse nicht hinaus.

Die Wasserbakterien zeigten sich dem Methylviolett gegenüber nicht widerstandsfähiger als die Typhusbacillen. Während bis 1·0 mgr : 100·0 hier eine Abnahme in der Zahl der zur Entwickelung gelangenden Keime überhaupt nicht zu bemerken war, zeigte sich eine solche bei 1·5 mgr : 100·0 darin, dass die verflüssigenden Bakterien erst nach 10 Tagen unter sehr langsamer Verflüssigung der Gelatine wuchsen. In noch stärkeren Nährböden gelangten sie nicht mehr zur Entwickelung. Von den anderen Bakterien kamen nur spärliche zur Entwickelung, allerdings bis 4·5 mgr : 100·0 hin.

XV. Mit Fuchsin versetzter Nährboden.

Die Fuchsinwirkung schien in geringem Grade schwächer zu sein als die des Methylviolett. Auf sämmtlichen Strichculturen bis 4·0 mgr : 100·0 wuchsen die Typhusbacillen gut und vollständig unbehindert, überall bildete sich ein kräftiger Rasen, der je nach der Stärke des Fuchsingehaltes in der Gelatine eine zart rosa bis intensiv rothe Färbung annahm. Etwas verlangsamt war das Wachsthum bei 4·5 mgr : 100·0, doch bildete sich auch hier noch ein guter Rasen. Dagegen war von nun ab das Wachsthum plötzlich äusserst schwach und langsam, doch liess es sich noch bei 6·0 mgr : 100·0 durch das Mikroskop nachweisen.

Auch in den Rollculturen lag die Grenze des Wachsthums der Typhusbacillen etwas höher. Noch bei einem Gehalt von 3·0 mgr : 100·0 war die Entwickelung der Colonieen ungehindert. Am zweiten Tage sichtbar, wuchsen sie auch weiterhin günstig unter mehr oder weniger starker Rothfärbung. Bei 3·5 mgr : 100·0 kamen die Colonieen dagegen nur noch schwach und langsam vorwärts und blieben auch relativ klein, waren jedoch makroskopisch erkennbar. Bei 4·0 mgr : 100·0 blieben sie auch nach längerer Zeit nur eben erkennbar; hier war wieder die Grenze erreicht.

Auf die Wasserbakterien übte das Fuchsin ebenfalls einen geringeren Einfluss aus. Noch bei 4·5 mgr : 100·0 gelangten, wenn auch verspätet, einzelne Keime zur Entwickelung, auch verflüssigende Bakterien wuchsen noch bei 3·0 mgr : 100·0 unter sehr langsamer Verflüssigung der Gelatine.

Eine tabellarische Zusammenstellung der bei diesen Versuchen betreffs des Typhusbacillus gewonnenen Resultate ist der Arbeit zum Schluss beigefügt.

Welche Schlüsse lassen sich nun aus den oben besprochenen Versuchen ziehen? Betrachtet man die Versuche im Allgemeinen, so erkennt man, wie es schon Schlüter und Helm betreffs einiger Säuren feststellten, dass der Typhusbacillus eine ziemlich grosse Widerstandsfähigkeit gegen verschiedene Substanzen besitzt, deren Anwesenheit in seinen Nährböden man früher sorgsam vermied, in der Voraussetzung, durch dieselben sonst eine Schädigung des Wachsthums hervorzurufen. Vielmehr zeigt sich, dass die Anwesenheit der in diesen Versuchen angewandten Substanzen in geringeren Graden mindestens indifferent ist für das Wachsthum der Typhusbacillen, ja oft sogar ein günstigeres Wachsthum hervorbringt, als es bei der bisher üblichen neutralen oder schwach alkalischen Reaction der Nährböden zu finden war. Dies gilt besonders von der Phosphorsäure; doch auch organische Säuren wären hier zu nennen.

Bei der Beobachtung der in steigenden Concentrationen mit den genannten Substanzen versetzten Nährböden war ferner zu erkennen, dass das Wachsthum der Typhusbacillen zuerst, auch wenn nicht direct günstig beeinflusst, immerhin ein gutes und ungehindertes war. Ziemlich plötzlich wurde dann, bei einem gewissen Grade der Concentration, das Wachsthum deutlich verlangsamt, obwohl auch hier noch die Colonieen später zu einer guten Entwickelung kamen. Ebenso plötzlich wurde wiederum — es handelte sich meist nur um Unterschiede von 0·05 bis 0·1 : 100·0 — das Wachsthum schwach und kümmerlich, um bald ganz aufzuhören. Es ist daraus zu schliessen, dass eine Einwirkung jener Substanzen auf die Entwickelung der Colonieen zuerst entweder überhaupt nicht vorhanden, oder durch die Widerstandskraft der Typhusbacillen überwunden wird. Erst bei einer gewissen Concentration macht sicht diese Einwirkung plötzlich geltend, das Wachsthum wird deutlich verlangsamt, ist aber noch ziemlich gut. Bei noch stärkeren Graden erlangt diese Einwirkung das Uebergewicht über die Lebensenergie der Typhusbacillen, das Wachsthum wird ebenso plötzlich schwach und kümmerlich. Man kann so direct zwischen einem indifferenten, einem die Entwickelung verlangsamenden und einem dieselbe nahezu aufhebenden Einfluss unterscheiden, deren Uebergänge zu einander sehr knapp sind und sich fast immer scharf trennen lassen.

Diese verschiedenen Stadien der Einwirkung waren sowohl bei den Strichculturen, in denen die Typhuscolonieen auf der freien Oberfläche, als auch bei den Rollculturen, in denen sie in der Gelatine eingebettet sich entwickelten, erkennbar. Dabei zeigte sich nun wiederum, dass auf den Strichculturen die Colonieen bei ziemlich weit höheren Graden jener Säuren u. s. w. sich entwickelten, als in den Rollculturen, dass sie dort eine grössere Widerstandsfähigkeit und Wachsthumsenergie bekundeten.

Die Ursachen dieser Erscheinung mögen zum Theil in der Anwesenheit bezw. dem vollständigen Abschluss des Luftsauerstoffes zu suchen sein, dessen der Typhusbacillus zu seinem Wachsthum allerdings nicht nothwendig bedarf, den er jedoch als fakultativer Aërobe stets gern sucht. Man könnte denken, dass die Anwesenheit des Sauerstoffes beim Wachsthum der Colonieen in den Strichculturen dieselben unter günstigere Lebensbedingungen stellt, und sie so den schädigenden Einflüssen gegenüber widerstandsfähiger macht.

Wahrscheinlich ist aber auch der Umstand von Bedeutung, dass in den Rollculturen durch die Vertheilung des Impfmaterials in der noch flüssigen Gelatine die Bacillen von einander gerissen und dann einzeln oder in wenigen Exemplaren zusammenliegend in der Gelatine eingebettet werden, während in den Strichculturen stets eine grosse Menge derselben aufgetragen wird und beisammen bleibt. Letztere würden dann durch ihre Menge, gewissermassen durch die Vereinigung ihrer Lebensenergie die schädigenden Einflüsse leichter überwinden, erstere dagegen ohne diese Hülfe den entwickelungshemmenden Einflüssen gegenüber nicht Stand halten können.

Was nun speciell die Einwirkung der Säure auf das Wachsthum der Typhusbacillen betrifft, so ist da ein bedeutender Unterschied zwischen organischen und anorganischen Säuren zu erkennen. Reducirt man die bei den Versuchen mit einer 20 procentigen Phosphorsäure gewonnenen Ziffern des Procentsatzes auf den wirklichen Säuregehalt, der also nur $^1/_5$ des oben angegebenen betragen würde, so hat man bei fast allen Säuren organischer Natur annähernd die gleichen Wirkungen. Von gleichem Einfluss erwies sich Alaun, der somit auch hierher zu rechnen wäre. Eine Ausnahme macht allein die Essigsäure, die noch in ihrer 30 procentigen Lösung, in der sie angewendet wurde, eine stärkere Wirkung zeigte, als sie die anderen organischen Säuren, auf absoluten Säuregehalt berechnet, bewiesen. Sie entspricht mehr den Mineralsäuren, die nur in ihren schwachen Lösungen von 25 Procent und 30 Procent eine ähnliche Wirkung, wie die reinen organischen Säuren erzielten. Auf absoluten Säuregehalt reducirt wären die Mineralsäuren, wie es die 97 procentige Schwefelsäure zeigte, schon in ganz geringen Procentsätzen von tödtender Wirkung.

Auch die mit den Alkalien gewonnenen Ziffern müssten auf den dritten Theil reducirt werden, um ein klares Bild der Einwirkung der genannten Substanzen zu bieten. Es würde sich dann besonders von der Natronlauge ergeben, dass sie schon in schwachen Mengen von deletärem Einfluss auf die Entwickelung der Typhusbacillen ist. Dies würde den

Angaben Kitasato's entsprechen, welche dahin gingen, dass die Typhusbacillen Säuren gegenüber widerstandsfähiger seien als Alkalien gegenüber. Von schwächerer Wirkung zeigte sich die Kalilauge. Es ist dies um deswillen interessant, weil man bisher annahm, dass die Kalisalze organischen Wesen gegenüber von grösserer Giftigkeit seien, als die Natronsalze. In Bezug auf Mikroorganismen scheint dies nun nicht von allgemeiner Gültigkeit zu sein, wie ja durch gleichzeitige Versuche sich zeigte, dass auch Wasserbakterien grössere Mengen von Kalilauge als von Natronlauge vertrugen.

Die Farbstoffe, Methylviolett und Fuchsin, zeigten sich schon in bedeutend geringeren Mengen als Säuren und Alkalien von stark antibakteriellen Eigenschaften. In ihrer Wirkung würde ungefähr ein Milligramm entsprechen einem Decigramm organischer Säure.

Die Ergebnisse der Untersuchungen lassen sich kurz in Folgendem zusammenfassen:

1. Die Widerstandsfähigkeit der Typhusbacillen gegen Säuren und Farbstoffe ist eine relativ hohe.

2. Unter den Säuren zeigen sich die Mineralsäuren von bedeutend stärkerer Einwirkung als die organischen Säuren.

3. Gegen Alkalien ist diese Widerstandsfähigkeit der Typhusbacillen eine viel geringere.

4. Bei den genannten Substanzen ist der Uebergang von einer Indifferenz zu einem die Entwickelung verlangsamenden und weiter zu einem dieselbe nahezu aufhebenden Einfluss ein plötzlicher.

5. Die Typhusbacillen vertragen stärkere Grade der genannten Substanzen bei Oberflächenwachsthum als bei Tiefenwachsthum.

—

Was nun zum Schluss die mit den Wasserbakterien angestellten Versuche betrifft, so haben sie ergeben, dass sich fast stets im Wasser Bakterien von gleicher oder grösserer Resistenzfähigkeit, als sie die Typhusbacillen besitzen, befinden. Es wird daher nicht möglich sein, durch den Zusatz einer der von mir verwandten Substanzen allein zum Nährsubstrat die Typhusbacillen aus Bakteriengemengen rein zu züchten. Allerdings lässt sich durch solche Zusätze eine grosse Menge anderer Bakterien ausschalten, die wie z. B. die verflüssigenden bei einer Untersuchung von sehr störendem Einfluss sind. Auch ist wohl nicht zu leugnen, dass

	Procent:	0·05	0·1	0·15	0·2
Milchsäure	Strichcultur	gutes Wachsthum	ebenso	ebenso	ebenso
	Rollcultur	gut	„	„	„
Citronensäure	Strichcultur	„	„	„	„
	Rollcultur	„	„	„	„
Phosphorsäure 20 Proc.	Strichcultur	sehr kräftig	„	„	„
	Rollcultur	gut	„	„	„
Weinsäure	Strichcultur	„	gut	gut	schwach
	Rollcultur	„	„	verlangsamt	„
Essigsäure 30 Proc.	Strichcultur	„	etwas schwächer	schwach	sehr schwach
	Rollcultur	„	schwach und langsam	0	—
Alaun	Strichcultur	„	gut	gut	gut
	Rollcultur	„	„	„	mässig
Carbolsäure	Strichcultur	„	„	mässig	schwach
	Rollcultur	„	„	langsam und schwach	0
Salzsäure 25 Proc.	Strichcultur	„	„	gut	schwach
	Rollcultur	„	„	schwach und langsam	—
Salpetersäure 30 Proc.	Strichcultur	„	„	gut	gut
	Rollcultur	„	„	„	„
Schwefelsäure 97 Proc.	Strichcultur	mässig	0	—	—
	Rollcultur	0	—	—	—
Natronlauge 33 Proc.	Strichcultur	gut	gut	gut	gut
	Rollcultur	„	„	„	„
Kalilauge 33 Proc.	Strichcultur	„	„	„	„
	Rollcultur	„	„	„	„
Methylviolett	Strichcultur	„	„	„	„
	Rollcultur	„	„	„	„
Fuchsin	Strichcultur	„	„	„	„
	Rollcultur	„	„	„	„

0·25	0·3	0·35	0·4	0·45	0·5	0·55
ebenso	schwach	sehr schwach	?	—	—	—
ngsam u. schwach	0	—	—	—	—	—
„	schwach	schwach	sehr schwach	—	—	—
ngsam u. schwach	—	—	—	—	—	—
„	gut	ebenso	ebenso	ebenso	ebenso	ebenso
„	„	„	„	„	„	„
sehr schwach	?	—	—	—	—	—
ehr langs. schwach	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—
gut	mässig	schwach	sehr schwach	—	—	—
chwach u. langsam	—	—	—	—	—	—
sehr schwach	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—
sehr schwach	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—
gut	mässig	schwach	sehr schwach	—	—	—
chwach u. langsam	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—
gut	gut	gut	gut	etwas langsamer	mässig	schwach
„	„	„	langsam	langsam u. schwach	—	—
„	„	„	gut	gut	gut	gut langsam
„	„	„	„	„	„	
„	mässig	mässig	mässig	mässig	schwach	sehr schwach
etwas ver- langsamt	schwach	sehr schwach	—	—	—	—
gut	gut	gut	gut	mässig	schwach	sehr schwach
„	„	schwach u. langsam	sehr schwach ?	—	—	—

	Procent:	0·6	0·65	0·7	0·75
Milchsäure	Strichcultur	—	—	—	—
	Rollcultur	—	—	—	—
Citronensäure	Strichcultur	—	—	—	—
	Rollcultur	—	—	—	—
Phosphorsäur. 20 Proc.	Strichcultur	gut	ebenso	ebenso	ebenso
	Rollcultur	„	verlangsamt	langsam und schwach	„
Weinsäure	Strichcultur	—	—	—	—
	Rollcultur	—	—	—	—
Essigsäure 30 Proc.	Strichcultur	—	—	—	—
	Rollcultur	—	—	—	—
Alaun	Strichcultur	—	—	—	—
	Rollcultur	—	—	—	—
Carbolsäure	Strichcultur	—	—	—	—
	Rollcultur	—	—	—	—
Salzsäure 25 Proc.	Strichcultur	—	—	—	—
	Rollcultur	—	—	—	—
Salpetersäure 30 Proc.	Strichcultur	—	—	—	—
	Rollcultur	—	—	—	—
Schwefelsäure 97 Proc.	Strichcultur	—	—	—	—
	Rollcultur	—	—	—	—
Natronlauge 33 Proc.	Strichcultur	—	—	—	—
	Rollcultur	—	—	—	—
Kalilauge 33 Proc.	Strichcultur	gut	etwas langsam	mässig	schwach
	Rollcultur	schwach und langsam	schwach und langsam	—	—
Methylviolett	Strichcultur	sehr schwach	—	—	—
	Rollcultur	—	—	—	—
Fuchsin	Strichcultur	sehr schwach	—	—	—
	Rollcultur	—	—	—	—

0·8	0·85	0·9	0·95	1·0	1·05	1·1
—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—
verlangsamt	verlangsamt	schwach	schwach	sehr schwach	sehr schwach	—
langsam und schwach	langsam und schwach	langsam und schwach	langsam und schwach	sehr langsam und schwach	—	—
—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—
sehr schwach	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—

durch eine Combination verschiedener Mittel, sei es zwischen Säuren allein oder zwischen Säuren und Farbstoffen, das Ziel erreicht werden kann.

Zum Schluss ist es mir eine angenehme Pflicht, auch an dieser Stelle meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. Uffelmann, für die mir vielfach zu Theil gewordene Anregung und Unterstützung bei umstehenden, im hygienischen Institut zu Rostock angestellten Untersuchungen meinen verbindlichsten Dank auszudrücken.